

## PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 61-015900

(43)Date of publication of application : 23.01.1986

---

(51)Int.Cl.

C07K 17/12  
// A61M 1/16  
C08B 15/06  
C12N 11/02

---

(21)Application number : 59-135749

(71)Applicant : AGENCY OF IND SCIENCE &  
TECHNOL

(22)Date of filing : 30.06.1984

(72)Inventor : MINOURA NORIHIKO

---

### (54) POROUS MEMBRANE OF MODIFIED CELLULOSE

#### (57)Abstract:

PURPOSE: The titled porous membrane that is composed of a cellulosic porous membrane which is impregnated with an amino group-containing high polymer where the high polymer is crosslinked through the amino groups, thus having flexibility and toughness enough to immobilize biosubstances.

CONSTITUTION: A cellulosic porous membrane is fitted to the filtration part in a sucking filtration unit and impregnated with an amino group-containing high polymer by gradually sucking its aqueous solution through the membrane. The membrane is detached, washed with water, dipped in aqueous glutaraldehyde to effect crosslinking of the amino groups included in the membrane, and then thoroughly washed with water to give the objective modified porous membrane.

⑩ 日本国特許庁(JP)

⑪ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報(A)

昭61-15900

⑬ Int.Cl.

識別記号

庁内整理番号

⑭ 公開 昭和61年(1986)1月23日

C 07 K 17/12  
 // A 61 M 1/16  
 C 08 B 15/08  
 C 12 N 11/02

6464-4H  
 6675-4C  
 7133-4C  
 7235-4B

審査請求 有 発明の数 2 (全3頁)

⑮ 発明の名称 変性セルロース系多孔質膜

⑯ 特 願 昭59-135749

⑰ 出 願 昭59(1984)6月30日

⑱ 発 明 者 笑 浦 憲 彦 茨城県筑波郡谷田部町東1丁目1番4号 工業技術院製品  
 科学研究所内

⑲ 出 願 人 工業技術院長

⑳ 指定代理人 工業技術院 製品科学研究所長

## 明 細 書

## 1. 発明の名称

変性セルロース系多孔質膜

## 2. 特許請求の範囲

(1) セルロース系多孔質膜にアミノ基を有する高分子を含浸させたものからなり、かつ該高分子は、アミノ基を介して架橋化されていることを特徴とする変性セルロース系多孔質膜。

(2) セルロース系多孔質膜にアミノ基を有する高分子を含浸させたものからなり、かつ該高分子は、アミノ基を介して架橋化されている変性セルロース系多孔質膜に、生体関連物質を固定化させたことを特徴とする生体関連物質を固定化させた変性セルロース系多孔質膜。

## 3. 発明の詳細な説明

本発明は、変性セルロース系多孔質膜に関するものである。

従来、セルロース系多孔質膜は、種々知られており、各種のものが市販されている。このようなセルロース系多孔質膜は酵素等の生体関連物質の

固定化用膜等として利用されるが、この場合、物性的に脆弱であるという欠点を有し、使用上に難点があつた。また、アミノ基を有する高分子膜についても、同様に物性的に脆弱であるという欠点を有している。

本発明者は、従来の生体関連物質固定化機能を持つた前記多孔質膜の欠点を克服すべき鋭意研究を重ねた結果、本発明を完成するに至つた。

即ち、本発明によれば、セルロース系多孔質膜にアミノ基を有する高分子を含浸させたものからなり、かつ該高分子は、アミノ基を介して架橋化されていることを特徴とする変性セルロース系多孔質膜が提供される。

本発明の変性セルロース系多孔質膜(以下、本発明の多孔質膜という)は、従来の前記多孔質膜に比べて、柔軟でかつ強靱であり、しかも、生体関連物質に対するすぐれた固定化機能を備えている。この場合、生体関連物質とは、アミノ酸、ペプチド、酵素、タンパク質、抗原、抗体、多糖類等の生体由来の生理活性を有する化合物を包含す

## 特開昭61-15900(2)

るものであり、これらはその分子中にアミノ基や水酸基を有しており、共有結合により本発明の膜に固定化することができる。生体関連物質固定化用膜は、一般に、酵素等を固定化してバイオリアクターに用いられ、またアミノ酸、酵素、抗原、あるいは抗体などを固定化してバイオセンサーに用いられる。さらに、このような膜は、ペプチド、タンパク質、ヘパリン、あるいは脂質等を固定化して血栓を凝固させない、また組織反応を引き起こさない人工臓器に用いられる。一般に、生体関連物質固定化用膜には、選度の力学的強度と物質透過性及び多量の生体関連物質を膜に共有結合で固定化するための官能基を有することが必要であるが、これらの要求を満たさせる膜の開発はいままで困難であつた。即ち、物質透過性の大きな膜で多量の官能基を有する膜、例えばポリエチレンイミン架橋膜やキトサン架橋膜は、架橋度が低いと水中で高度に膨潤して力学的に弱く、架橋度が高いともろくなり、上記の目的には適さない。また、セルロース系多孔質膜もこの目的には不満足

のものであつた。

本発明の多孔質膜を得るには、セルロース系多孔質膜と、アミノ基を有する高分子の溶液とを接触させ、セルロース系多孔質膜の細孔中にアミノ基を有する高分子を含浸させる。この場合、セルロース系多孔質膜としては、従来公知のもの、例えば、再生セルロース、酢酸セルロース、あるいは酢酸セルロースと酢酸セルロースとの混合物からなる膜体が挙げられ、その孔径は生体関連物質やアミノ基を有する高分子が透過し得る程度の大きさであればよい。アミノ基を有する高分子としては、従来公知のもの、例えば、ポリエチレンジアミン、キトサン、ポリリジン、ポリアクリルアミン、ポリアミノスチレン等があり、その重合度は10以上であればよい。

次に、前記のようにして細孔中にアミノ基を有する高分子が含浸されたセルロース系多孔質膜に対し、アミノ基や水酸基等の活性基を有する高分子に対して従来慣用されている架橋剤の溶液と接触させ、架橋化反応処理を行う。この場合、架

- 3 -

橋剤の具体例としては、アルデヒド基、イソシアナ基、イソチオシアナ基、酸クロライド基、アルコキシラン基等を同一分子中に2個以上有するものが挙げられ、例えば、グルタルアルデヒド、ヘキサメチレンジイソシアネート、アジピン酸クロライドなどがある。架橋剤の使用量は特に制約されないが、一般には、アミノ基を有する高分子に対し、化学理論量の0.5〜5倍、通常、1〜2倍程度の割合で用いられる。

この架橋化処理によつて、アミノ基を有する高分子アミノ基間に架橋が形成される。また、この場合、アミノ基とセルロース系多孔質膜中に存在する水酸基との間にも架橋が生じる。このような架橋処理を施して得られる本発明の多孔質膜は、セルロース系多孔質膜の欠点が改良され、柔軟性ある折曲げ性のよいものであり、生体関連物質の固定化用膜として有効なものである。即ち、本発明の多孔質膜に、生体関連物質を含む溶液を接触させると、生体関連物質の有するアミノ基や水酸基が架橋剤の未反応基と反応し、固定化される。

- 5 -

- 4 -

次に本発明を実施例によりさらに詳細に説明する。

## 実施例 1

セルロース系多孔質膜(孔径 $0.45\mu\text{m}$ )を吸引濾過用フィルター部に装着し、ポリエチレンジアミンの1%水溶液約10mlをわずかの減圧でゆつくりと吸引濾過した。濾過液が約8mlになつたところで吸引濾過を止め、多孔質膜を脱着し、水洗した。この多孔質膜を5%のグルタルアルデヒド水溶液に12時間浸漬した。この浸漬により多孔質膜はシワ状の生成により黄かつ色になつた。十分に水洗して生体関連物質固定化用膜を得た。

## 実施例 2

実施例1においてポリエチレンジアミンのかわりに1%キトサン酢酸水溶液を用いた以外は同様にして生体関連物質固定化用膜を得た。

## 実施例 3

実施例1または実施例2の膜(面積約 $1\text{cm}^2$ )をpH7.0の0.1Mリン酸緩衝液中に1日以上浸漬した。この膜を、酵素グルコースオキシダーゼを含むpH

- 6 -

## 特開昭61-15900(3)

7.0の0.1Nリン酸緩衝液(10A)に室温下浸漬した。2時間後、その膜を酵素を含まないリン酸緩衝液で十分に洗浄し、0.1N  $\text{NaOH}$  のリン酸緩衝液に室温下3分間浸漬した。膜は淡黄色に変化した。その後、膜をリン酸緩衝液で十分に洗浄した。

## 実施例4

実施例3で得られた2種の酵素固定化膜を溶存酸素濃度計の電極部に装着し、グルコース濃度の異なるリン酸緩衝液にその電極を装入すると、いずれの場合にもグルコース濃度に対応した電流変化つまり酸素濃度の減少がみられた。グルコース濃度  $5 \times 10^{-3}$  M から  $1 \times 10^{-2}$  M の範囲で濃度と電流変化量との間に直線関係が得られた。固定化膜の酵素の最適pHは7.0、最適温度は72℃であり、固定していない酵素の場合はpH5.8、38℃であった。

## 実施例5

実施例3において、酵素グルコースオキシダーゼのかわりにグルコースオキシダーゼとグルコシダーゼの複合物(重量比1:100)を用いた以外は同様にして行くと、マルトース濃度に対応した酸素

濃度の減少がみられた。マルトース濃度  $5 \times 10^{-3}$  M から  $2 \times 10^{-2}$  M の範囲で濃度と電流変化量との間に直線関係が得られた。

## 実施例6

実施例3において、膜の片面に酵素グルコースオキシダーゼを反応させ、膜の裏面に酵素グルコシダーゼを反応させた以外は同様にして行くと、マルトース濃度に対応した酸素濃度の減少がみられた。マルトース濃度  $5 \times 10^{-3}$  M から  $2 \times 10^{-2}$  M の範囲で濃度と電流変化量との間に直線関係が得られた。

## 実施例7

実施例4において開孔した電極を、でんぷん5gを含むリン酸緩衝液100mlに浸漬し、アミラーゼを含むリン酸緩衝液を20μl添加すると、酸素濃度が時間とともに減少した。アミラーゼ酵素活性20U/dl から400U/dl の範囲で酵素活性と電流変化速度との間に直線関係が得られた。

## 実施例8

実施例3において、酵素のかわりにアルブミン

- 7 -

を用いた以外は同様にして行い、アルブミン固定化膜を得た。紫外吸収スペクトルにおいて  $1650\text{cm}^{-1}$  および  $1540\text{cm}^{-1}$  のアルブミンのペプチド結合に基づく吸収が存在し、アルブミンが固定化されたことが確認された。

- 8 -

特許出願人 工業技術院長 川 田 裕 郎

指定代理人 工業技術院製品科学研究所長

高 橋 欣 司